

Análise crítica de três guias oficiais de validação de métodos analíticos em vigor no Brasil

Debora Helena Vieira¹, Wildeberg Cal Moreira¹, Lilia Ribeiro Seródio¹,
Octávio Augusto França Presgrave², Bruno Dallagiovanna³,
Wlamir Corrêa de Moura^{1,2}

¹Departamento de Farmacologia e Toxicologia, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, FIOCRUZ, Avenida Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, 21040-900, RJ, Brasil.

²BraCVAM, FIOCRUZ, Avenida Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, 21040-900, RJ, Brasil.

³Instituto Carlos Chagas, FIOCRUZ, Rua Prof. Algacyr Munhoz Mader, 3775, CIC, 81350-010, Curitiba/PR, Brasil.

*Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia do Instituto Carlos Chagas da Fiocruz.

Recebido: 19 de dezembro de 2022

Revisado: 3 de março de 2023

Aceto: 8 de março de 2023

RESUMO

Introdução: a partir do século XX, com o surgimento das indústrias farmacêuticas após a descoberta da penicilina, acidentes envolvendo fármacos impulsionaram os avanços que culminaram na criação e adoção das boas práticas de fabricação nesta área e, paralelamente, dos princípios e uso mandatório das validações dos processos produtivos e métodos analíticos. Em geral, o guia de validação do ICH é o mais utilizado nesta área. No entanto, têm sido relatadas divergências nas definições dos parâmetros de validação contidos neste guia e em outros. No Brasil existem três guias oficiais em vigor (ANVISA, INMETRO e MAPA). **Objetivo:** analisar criticamente as definições das características de validação contidas nas normas brasileiras oficiais de validação e sua concordância com as definições padrão. **Métodos:** selecionar na literatura específica as definições das características de validação mais coerentes cientificamente e utilizá-las como definições padrão na avaliação das normas oficiais brasileiras. **Resultados:** verificou-se que a concordância das três normas oficiais brasileiras com as definições padrão foi de 37,5%, ANVISA; 50%, INMETRO e 62,5%, MAPA. **Conclusões:** é fundamental ter definições claras e cientificamente

relevantes para as diferentes características de validação e utilizar métodos estatísticos adequados para a sua avaliação. Uma harmonização entre as diferentes normas oficiais seria de grande importância para evitar discrepâncias entre os setores regulados pelos diferentes órgãos no país.

Palavras-chave: Ensaios, métodos analíticos, validação.

SUMMARY

Critical analysis of three official guides for the Validation of Analytical Methods in force in Brazil

Introduction: From the XX century, with the emergence of pharmaceutical industries after the discovery of penicillin, accidents involving drugs boosted advances that culminated in the creation and adoption of good manufacturing practices (GMPs) in that field and, in parallel, with the principles and mandatory use of validations of processes and analytical methods. In general, the ICH validation guide is the most used in this area. However, improprieties and discrepancies in the definitions of validation characteristics contained in this guide and others have been reported. In Brazil there are three official guides in force at present (ANVISA, INMETRO and MAPA). **Aim:** To critically analyze the definitions of the validation characteristics contained in the official Brazilian validation guidelines and their agreement with the standard definitions. **Methods:** the definitions were selected from the specific literature and use them as standard definitions in the evaluation of official Brazilian guidelines. **Results:** It was found that the agreement of the three official Brazilian norms with the standard definitions for the validation characteristics was 37.5%, ANVISA; 50%, INMETRO and 62.5%, MAPA. **Conclusions:** It is essential to have clear and scientifically relevant definitions for the different validation characteristics and to use appropriate statistical methods for its evaluation. Harmonization between the different official standards would also be important to avoid discrepancies between the sectors regulated by the different bodies in the country.

Keywords: Analytical methods, assays, validation.

RESUMEN

Análisis crítico de tres guías oficiales de validación de métodos analíticos vigentes en Brasil

Introducción: a partir del siglo XX, con el surgimiento de las industrias farmacéuticas tras el descubrimiento de la penicilina, los accidentes con medicamentos impulsaron avances que culminaron con la creación y adopción de buenas prácticas de manufactura (BPM) en ese campo y, paralelamente, con los principios y uso obligatorio de validaciones de procesos y métodos analíticos. En general, la guía de validación del ICH es la más utilizada en este ámbito. Sin embargo, hay irregularidades y discrepancias en las definiciones de las características de validación contenidas en esta y otras guías. En Brasil existen actualmente tres guías oficiales vigentes (ANVISA, INMETRO y MAPA). **Objetivo:** analizar críticamente las definiciones de las características de validación contenidas en las directrices oficiales de validación brasileñas y su concordancia con las definiciones estándar. **Métodos:** seleccionar de la literatura específica las definiciones de las características de validación científicamente más coherentes y utilizarlas como definiciones estándar en la evaluación de las directrices oficiales brasileñas. **Resultados:** se constató que la concordancia de las tres normas oficiales brasileñas con las definiciones estándar para las características de validación fue del 37,5%, ANVISA, 50%, INMETRO y 62,5%, MAPA. **Conclusiones:** es fundamental tener definiciones claras y científicamente relevantes para las diferentes características de validación y utilizar métodos estadísticos apropiados para su evaluación. También sería importante la armonización entre las diferentes normas oficiales para evitar discrepancias entre los sectores regulados por los distintos organismos en el país.

Palabras clave: Ensayo, métodos analíticos, validación.

INTRODUÇÃO

A partir do século XX, com o surgimento das indústrias farmacêuticas após a descoberta da penicilina, acidentes envolvendo fármacos impulsionaram os avanços que culminaram na criação e adoção das boas práticas de fabricação e, paralelamente, dos princípios e uso mandatório das validações dos processos de fabricação e métodos analíticos [1].

A necessidade de validação na indústria, como meio de garantir que as empresas sigam a rigor os procedimentos com relação aos processos de produção e controle da qualidade, está intrinsicamente ligada à evolução da qualidade no setor industrial de maneira geral e à criação e evolução das Boas Práticas de Fabricação - BPF [2].

A importância da validação de métodos tem sido enfatizada desde o final dos anos 40, quando a American Chemical Society e a Merck & Co. levantaram a questão de como a matemática e a estatística são pré-requisitos necessários para o desenvolvimento e adaptação bem-sucedida de novos métodos analíticos [3].

O processo de validação de um método analítico consiste na sua avaliação sistemática por meio de ensaios experimentais de modo a confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido sejam atendidos [4].

Em um contexto geral, a validação de métodos é um processo que consiste em pelo menos cinco etapas distintas, a saber: qualificação do sistema, amostragem, preparação da amostra, análise e avaliação dos dados [5].

No início dos anos 80, foi apontado que as definições dos parâmetros característicos para validação de métodos e tópicos relacionados eram diferentes entre as organizações existentes. Em 1990, a *International Conference on Harmonization* (ICH) foi criada como um projeto único para reunir as autoridades reguladoras da Europa, Japão e Estados Unidos com o objetivo de alcançar uma maior harmonização de parâmetros, requisitos e, até certo ponto, também metodologia para validação de métodos analíticos [5].

Na indústria farmacêutica, validações analíticas são realizadas de acordo com o guia Q2 (R1) da ICH [6]. No presente, uma revisão do documento está em andamento para incluir aplicações mais recentes de procedimentos analíticos e para alinhar o conteúdo com o novo documento Q14 (ICH, analytical procedure development Q14 – draft version 2022), ambos se encontrando na fase de consulta pública, sendo o mesmo intitulado Q2 (R2).

Entretanto, têm sido relatadas impropriedades e divergências nas definições dos parâmetros de validação contidos neste guia, assim como em outros [5, 7, 8]. O conhecimento e a compreensão dessas diferenças significativas de terminologia e definições são essenciais, pois as metodologias propostas para atender aos critérios da definição podem gerar confusão na elaboração do protocolo de validação e do desenho experimental [9].

No Brasil são três os guias oficiais em vigor mais relevantes para a área farmacêutica, a Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 166 de 2017 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA [4], aplicável a métodos analíticos empregados em insumos farmacêuticos, medicamentos e produtos biológicos em todas as suas fases

de produção, sendo de grande importância na área farmacêutica de uso humano; o guia de Validação de Procedimentos Analíticos, Controle da Qualidade para Alimentação Animal e Medicamentos Veterinários publicado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA [10] voltado à área de produtos de uso veterinário; e um documento de caráter orientativo sobre Validação de Métodos Analíticos do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Inmetro [11], voltado aos laboratórios acreditados ou postulantes à acreditação pelo Inmetro na norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 [12] e aos avaliadores e especialistas na área de laboratórios de ensaios. Uma vez que, no Brasil, o único organismo reconhecido de acreditação de laboratórios nesta norma é a Coordenação Geral de Acreditação (Cgcre) do Inmetro, pela Divisão de Acreditação de Laboratórios (Dicla), este documento deve abranger uma ampla gama de naturezas de ensaios, estando listadas cerca de 70 áreas de atividades no Sistema de Consulta aos Escopos de Acreditação do Inmetro.

A acreditação realizada pela Cgcre é de caráter voluntário e representa o reconhecimento formal da competência de um Organismo de Avaliação da Conformidade (OAC) para desenvolver suas atividades de acordo com requisitos preestabelecidos.

A norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 no item 7.2.2 Validação de métodos estabelece que o laboratório deve validar métodos não normalizados, métodos desenvolvidos pelo laboratório e métodos normalizados utilizados fora de seu escopo pretendido ou modificados de outra forma. A validação deve ser tão abrangente quanto for necessária para atender às necessidades de uma determinada aplicação ou campo de aplicação [12].

A Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde (Reblas) é constituída por laboratórios analíticos, públicos ou privados, habilitados pela Anvisa, capazes de oferecer serviços de interesse sanitário com qualidade, confiabilidade, segurança e rastreabilidade [13].

A habilitação concedida relaciona o código Reblas ao endereço e ao escopo analítico do laboratório e seus critérios são estabelecidos pela Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 390, de 26 de maio de 2020 [14]. A habilitação na Reblas tem como escopos de atuação as seguintes categorias de produtos acabados: produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes; hemoderivados; insumos farmacêuticos; medicamentos; produtos para saúde; saneantes; vacinas; alimentos e produtos de cannabis [13].

Para habilitação na Reblas, o laboratório analítico deve apresentar comprovante da implantação do Sistema de Gestão da Qualidade Laboratorial no escopo a ser habilitado por meio de Relatório de Avaliação do Laboratório Analítico ou da acreditação pelo Inmetro segundo a norma vigente ABNT NBR ISO/IEC 17025.

Para o credenciamento de laboratórios junto ao MAPA com a finalidade de atender, de forma complementar, aos programas e controles oficiais do MAPA, suprimindo demandas por ensaios laboratoriais excedentes, não atendidas pelos laboratórios do próprio MAPA é exigido que o laboratório solicitante possua acreditação na ABNT NBR ISO/IEC 17025, pelo INMETRO, contemplando os ensaios constantes na solicitação de credenciamento [15].

Este estudo teve como objetivo analisar criticamente as orientações das características de validação contidas em três normas brasileiras oficiais e sua concordância com as definições mais relevantes cientificamente para as principais características recomendadas no processo de validação de métodos analíticos.

METODOLOGIA

Foram identificadas as definições das características de validação mais coerentes cientificamente nas normas internacionais, assim como na literatura específica, as quais foram utilizadas como um padrão na avaliação de três normas oficiais brasileiras. Para tanto, foram consultadas as normas da *Association of Official Analytical Chemists* [16], *International Organization for Standardization - ISO 5725* [17], *International Council for Harmonisation - ICH* [6], *International Organization for Standardization - ISO 3534-2* [18], *International Union of Pure and Applied Chemistry - IUPAC* [19], Vocabulário Internacional de Metrologia - VIM [20], EURACHEM/*Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry - EURACHEM/CITAC* [21] e os artigos de Araujo [5], Hubert *et al.* [7] e Rozet *et al.* [8].

Foram analisadas criticamente as definições das características de validação contidas em três normas brasileiras oficiais, RDC nº166 da ANVISA [4], documento orientativo sobre Validação de Métodos Analíticos do INMETRO [11] e o guia de Validação de Procedimentos Analíticos do MAPA [10] e sua concordância com as Definições Padrão.

Como forma de avaliação entre as Definições Padrão e os guias brasileiros, foi elaborada a seguinte pontuação para cada parâmetro de validação: “0” quando não há concordância nenhuma com as Definições Padrão; “1” quando há uma concordância parcial (caracterizada pelo uso indevido de alguma terminologia em uma definição cientificamente coerente, como exatidão (ICH) em vez de veracidade) e “2” quando há uma concordância integral.

Foi calculado também o percentual (%) de concordância entre a Definição Padrão de cada característica, considerando apenas duas possibilidades: concorda (para a carac-

terística com a pontuação “2”) ou discorda (para a característica com a pontuação “0” ou “1”). Foi ainda avaliada a concordância entre as definições contidas nas três normas entre si.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características de validação selecionadas para a elaboração do padrão utilizado na avaliação das três normas brasileiras foram: seletividade, função de resposta/curva de calibração, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão, exatidão, veracidade e faixa de trabalho/intervalo.

1. Definições Padrões das características de validação

1.1 Seletividade

Seletividade refere-se à extensão em que o método pode ser utilizado para determinar analitos particulares em misturas ou matrizes, sem interferências de outros componentes na mistura [21].

1.2 Função de resposta / Curva de calibração

Função resposta é a relação existente, dentro de uma faixa especificada, entre a resposta (sinal, e.g. área sob a curva, altura do pico, absorbância) e a concentração (quantidade) do analito na amostra. A curva de calibração é a função de resposta monotônica mais simples (estritamente crescente ou decrescente) que dá medidas confiáveis, ou seja, resultados com adequadas veracidade e precisão [8].

1.3 Linearidade

É a capacidade (dentro de um determinado intervalo) de obter resultados de teste que são diretamente proporcionais à concentração (quantidade) do analito na amostra [6].

1.4 Limite de detecção

Menor quantidade de analito em uma amostra que pode ser detectada com precisão aceitável, mas não necessariamente quantificada como um valor exato [6, 16, 19, 21].

1.5 Limite de quantificação

Concentração mais baixa do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de exatidão e, portanto, pode ser definido arbitrariamente como limite inferior da faixa de trabalho do método [21].

1.6 Precisão

Proximidade de concordância entre os resultados de teste/medição obtidos em condições estipuladas. A precisão depende apenas da distribuição de erros aleatórios e não se relaciona com os valores verdadeiro ou especificados [18].

Conforme declarado em todos os documentos oficiais, a precisão é expressa como desvio padrão, variância ou coeficiente de variação. Mede o erro aleatório ligado ao procedimento analítico, ou seja, à dispersão dos resultados em torno de seu valor médio.

Para os documentos ISO três níveis podem ser considerados:

- Repetibilidade: expressa a precisão sob as mesmas condições de operação em um curto intervalo de tempo. Também é chamada de precisão intra-ensaio.
- Precisão intermediária: expressa variações dentro dos laboratórios: dias diferentes, analistas diferentes, equipamentos diferentes e outros fatores distintos nas determinações.
- Reprodutibilidade: expressa a precisão entre laboratórios (estudos colaborativos, usualmente aplicados para padronização de metodologia).

1.7 Exatidão (do termo em inglês *Accuracy*)

O ICH define de forma equivocada exatidão em vez de veracidade. Segundo o VIM [20] o termo “exatidão de medição” não deve ser utilizado no lugar de veracidade de medição.

Segundo a ISO 3534-2 [18], exatidão é a proximidade de concordância entre um resultado de teste ou resultado de uma medição e o valor verdadeiro. Além disso, na definição ISO é adicionada uma nota especificando que a exatidão (*accuracy*) quando combinada a um conjunto de resultados de medição envolve a combinação de erro aleatório e erro sistemático ou tendência e expressa o erro total.

Uma vez que, no presente artigo, haverá frases em que o sentido do termo exatidão se referirá ao seu emprego inadequado, em lugar de veracidade, como usado pelo ICH, ou apropriado, como descrito na norma ISO 5725 [17] se referindo à combinação da veracidade e da precisão, usaremos doravante os termos exatidão (ICH) ou exatidão (ISO), de acordo com o significado na frase.

1.8 Veracidade (do termo em inglês *Trueness*)

A norma ISO 5725 [17] define veracidade como “a proximidade de concordância entre o valor médio obtido de uma grande série de resultados de ensaios e um valor de refe-

rência aceito”. A medida de veracidade é normalmente expressa em termos de tendência (do termo em inglês *bias*).

Frequentemente, são utilizados conceitos diferentes para os tipos de erro (erros aleatórios, sistemáticos e total), exatidão (veracidade e precisão) e incerteza. Alguns desses conceitos têm significado qualitativo e alguns são quantitativos [22]. Ao longo dos anos, termos e definições foram alterados e novos termos foram introduzidos. Além disso, diferentes setores ainda favorecem diferentes termos, o que leva a uma grande confusão. A figura 1 ilustra as ligações entre os termos.

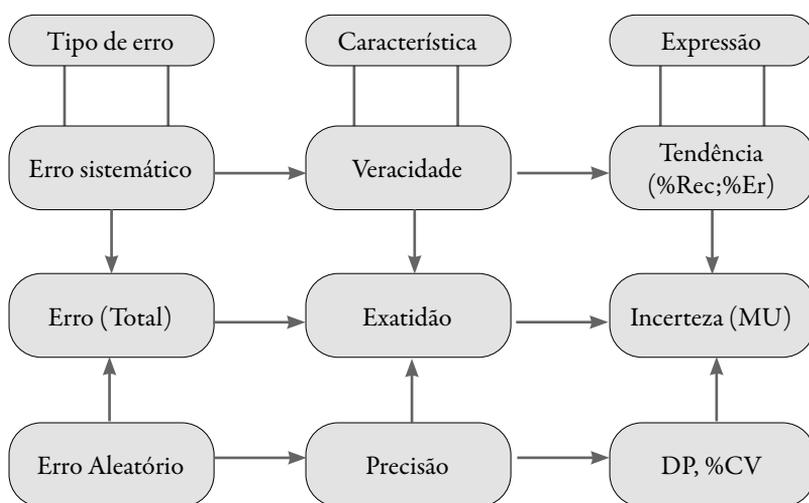


Figura 1. Ligações entre alguns conceitos fundamentais usados para descrever a qualidade de resultados de medição: tipo de erro de acordo com a característica de validação e sua expressão. %Rec: Recuperação (%); %ER: Erro Relativo (%); MU: *measurement uncertainty*; DP: desvio padrão e %CV: coeficiente de variação (%). Fonte: Adaptado de EURACHEM [22].

1.9 Faixa de trabalho / Intervalo

O intervalo entre as concentrações superior e inferior do analito na amostra (incluindo essas concentrações) para o qual foi demonstrado que o procedimento analítico possui um nível adequado de precisão, exatidão (ISO) (termo usado em vez de Veracidade) e linearidade [6].

2. Validação de métodos analíticos

Sistemas de garantia da qualidade, como as BPF e a ISO/IEC 17025 [12], requerem o uso de procedimentos analíticos devidamente validados. Embora seja aceito que para

métodos compendiais basta realizar um estudo de validação parcial que deve avaliar, pelo menos, os parâmetros precisão, exatidão (ICH) e seletividade [4].

A ANVISA e o INMETRO enumeram os casos específicos nos quais é imprescindível validar o método a ser utilizado, com intuito de comprovar essa adequação. São eles: métodos não normalizados; métodos desenvolvidos pelo próprio laboratório; métodos normalizados usados fora dos escopos para os quais foram concebidos e ampliações e modificações de métodos normalizados [4, 11], seguindo o preconizado na ISO/IEC 17025.

3. Análise crítica das características de validação

Todos os pesquisadores enfrentam as mesmas situações quando necessitam realizar validações de métodos analíticos. Em geral, os analistas consultam documentos de regulamentação ou de orientação e, portanto, a validade dos métodos é dependente da orientação, terminologia e metodologia propostas nesses documentos [8].

Com a finalidade de determinar as características de validação mais importantes a serem abordadas, foi realizada uma revisão crítica das recomendações publicadas nas três normas brasileiras, as definições das características de validação recomendados nelas e a concordância dessas definições com o padrão elaborado nesta pesquisa e, entre si.

3.1 Seletividade

As definições das três normas brasileiras e as internacionais [16, 19-21] são coerentes entre si e com a Definição padrão.

O primeiro critério a ser avaliado por um analista em um método, seria sua capacidade de obter sinais ou respostas livres de interferências e resultar em dados verdadeiros. Essa capacidade de discriminar o analito dos componentes interferentes vinha sendo expressa de forma confusa por muitos anos como “seletividade” ou “especificidade” de um método, dependendo da área de especialização dos autores [8].

A seletividade deve ser conectada com a palavra “escolha”, enquanto a especificidade com a palavra “exato”. Nesse contexto, é incorreto graduar o termo especificidade (ou se tem ou não) [5].

Em contrapartida, a seletividade pode ser classificada como baixa, alta, ruim, parcial, boa etc., a fim de escolher a categoria apropriada para uma determinada finalidade. O termo especificidade refere-se sempre a 100% de seletividade [23], ou, inversamente, 0% de interferências [5].

No entanto, as normas brasileiras oficiais tiveram consenso no uso do termo seletividade em vez de especificidade. Contudo, a Conferência Internacional para Harmonização (ICH) se refere ao parâmetro como especificidade, contrapondo-se às demais organizações.

Segundo o EURACHEM [22], a confirmação da identidade do analito exige que a medição seja realizada por várias técnicas, de preferência independentes. A confirmação aumenta a confiança na técnica avaliada e é especialmente útil quando as técnicas de confirmação operam em princípios significativamente diferentes. Contudo, quando o método de medição que está sendo avaliado é altamente seletivo, a utilização de outras técnicas pode não ser necessária.

3.2 Função de resposta, Curva de calibração e Linearidade

A função de resposta, ou curva de calibração, é frequentemente confundida com o critério de linearidade. O critério de linearidade refere-se à relação entre a quantidade introduzida e a quantidade calculada por meio da curva de calibração, enquanto que a curva de calibração refere-se à relação entre a resposta instrumental e a concentração [8]. Logo, ao se calcular a linearidade, o método estatístico utilizado na determinação dos resultados obtidos influenciará diretamente na relação entre o introduzido e o recuperado. Na curva de calibração não haverá esta influência. Hubert *et al.* [7] descreveram a utilização de perfis de exatidão e de linearidade para determinar qual o método de cálculo rende resultados mais exatos (ISO) e lineares.

Devido à esta confusão, é comum que estudos de validação tentem demonstrar que a função resposta é linear no sentido clássico, utilizando um modelo linear de mínimos quadrados convencional. O documento do ICH [6] continua mantendo esta confusão. Na parte terminológica do guia Q2 (R1), a linearidade é corretamente definida, mas na seção de metodologia é mencionado que: “A linearidade deve ser avaliada por inspeção visual de um gráfico de sinais em função da concentração ou conteúdo do analito”, o que indica claramente que é o sinal e não mais o resultado que importa na linearidade, confundindo, por um lado, linearidade e curva de calibração e, por outro, resultados de testes e sinal. Na continuação do texto observamos: “Se houver uma relação linear, os resultados dos testes devem ser avaliados por métodos estatísticos apropriados, por exemplo, pelo cálculo de uma linha de regressão pelo método dos mínimos quadrados”. Para um analista, os “resultados dos testes” são, sem ambiguidade, as medidas calculadas avaliadas pela “linha de regressão” que é de fato a curva de calibração, estabelecida por meio de metodologias estatísticas apropriadas [8].

Os critérios de linearidade devem ser aplicados apenas aos resultados [concentração calculada = f (concentração introduzida)], não às respostas [sinal = f (concentração introduzida)].

As normas brasileiras coadunam com a Definição Padrão de linearidade, conforme demonstrado na tabela 1. Contudo, tanto a ANVISA como o INMETRO seguem o guia ICH [6] que para a metodologia se referem às medidas calculadas para a linearidade, quando na verdade deveriam se referir à curva de calibração. Da mesma forma o MAPA se refere à linearidade remetendo entre parênteses à curva de calibração. No entanto as recomendações de análise da linearidade do MAPA são as mais coerentes e estão alinhadas ao definido pela AOAC [16] e avaliada com o uso da inspeção visual do gráfico da reta de calibração e do gráfico de resíduos gerados pela regressão linear”.

Tabela 1. Definições de linearidade segundo as agências brasileiras.

Instituição	Definição
ANVISA	Linearidade de um método deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra [4].
INMETRO	Linearidade de um procedimento analítico é a sua habilidade (dentro de uma dada faixa) em obter resultados os quais são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra [11].
MAPA	Linearidade (curva de calibração) é a capacidade de o procedimento produzir resultados diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado [10].

Para evitar equívocos, a AOAC [16], IUPAC [19] e VIM [20] definem apenas curva de calibração e não utilizam mais o termo “linearidade”.

Ainda a ANVISA cita na Seção II de Linearidade que “O coeficiente de correlação deve estar acima de 0,990”. A AOAC [16] estipula que um coeficiente de correlação alto (por exemplo, >0,99) é frequentemente recomendado como evidência de qualidade do ajuste, e que o uso desse coeficiente como um teste de linearidade é incorreto. O exame visual geralmente é suficiente para indicar linearidade e não linearidade, ou o uso de teste residual. Afirma ainda que uma resposta linear é desejável, pois simplifica os cálculos, mas não é necessária e nem deve ser considerada como uma característica de desempenho exigida.

3.3 Limite de detecção

Não existe incompatibilidade na definição de limite de detecção por parte das organizações normalizadoras, sendo definido como a menor quantidade de analito em uma amostra que pode ser detectada com confiabilidade aceitável, mas não necessariamente quantificada como um valor exato [4, 6, 10, 11, 16, 19, 21]. Contudo, o MAPA define limite de detecção de um equipamento e não do método em si.

Segundo o EURACHEM [22] é necessário distinguir entre o limite de detecção do instrumento e o limite de detecção do método. O limite de detecção do instrumento pode ser baseado na análise de uma amostra, muitas vezes amostra “branco”, apresentado diretamente ao instrumento (ou seja, omitindo quaisquer etapas de preparação da amostra), ou na relação sinal-ruído como, por exemplo, o cromatograma. Para obter um limite de detecção de método, o mesmo deve ser baseado na análise de amostras que foram tomadas ao longo de todo o procedimento de medição usando resultados calculados com a mesma equação das amostras de teste. É o limite de detecção do método que é mais útil para a validação do método e não o limite de detecção do instrumento.

A AOAC [16] relata que a definição de limite de detecção utilizada por parte das organizações normalizadoras contém uma contradição inerente: quanto menor a quantidade de analito medida, maior a falta de confiabilidade da estimativa. À medida que descemos na escala de concentração, o desvio padrão aumenta até o ponto em que uma fração substancial dos valores da distribuição de resultados se sobrepõe a “0” e aparecem falsos negativos. Portanto, a definição do limite se resume a uma questão de qual fração de valores estamos dispostos a tolerar como falsos-negativos.

Desta forma, o VIM [20] define limite de detecção como o valor medido, obtido por um dado procedimento de medição, para o qual a probabilidade de declarar falsamente a ausência de um constituinte num material é “ β ”, sendo “ α ” a probabilidade de declarar falsamente a sua presença.

Segundo recomendação da AOAC [16], o limite de detecção é útil apenas para o controle de impurezas indesejáveis que são especificadas como “não mais que” um nível baixo especificado e para contaminantes de nível baixo. Ingredientes úteis devem estar presentes em concentrações altas o suficiente para serem funcionais. O nível de especificação deve ser definido alto o suficiente na faixa de trabalho para que os materiais aceitáveis não produzam mais de 5% de valores falsos positivos, o nível de aceitação estatística padrão. Os limites geralmente dependem diretamente do desempenho do instrumento, que pode ser verificado pelo uso de padrões puros dos compostos.

3.4 Limite de quantificação

As definições de limite de quantificação pelas normativas brasileiras são apresentadas na tabela 2.

Tanto a ANVISA como o INMETRO usam a definição de limite de quantificação do ICH que utiliza o termo exatidão erroneamente, tornando essa definição incorreta quando comparada com a Definição Padrão. Todavia, o MAPA em vez de utilizar o termo exatidão, substitui pelo termo correto que é veracidade, quando cita que o limite de quantificação é definido como “o nível mais baixo de concentração no qual foi demonstrado que os critérios de veracidade e precisão foram atendidos”, estando em acordo com a Definição Padrão.

O limite de quantificação é frequentemente determinado por sucessivas diluições de uma mesma amostra, até alcançar o menor nível da concentração do analito em que este pode ser quantificado com confiança [4, 11].

Tabela 2. Definições de limite de quantificação segundo as agências brasileiras.

Instituição	Definição
ANVISA	O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e “exatidão” aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas [4].
INMETRO	O limite de quantificação de um procedimento analítico individual é a menor quantidade do analito na amostra que pode ser quantitativamente determinada com precisão e “exatidão” aceitáveis [11].
MAPA	Limite de quantificação do procedimento analítico é definido como o nível mais baixo de concentração no qual foi demonstrado que os critérios de veracidade e precisão foram atendidos, desde que a relação sinal/ruído seja superior a seis ($S/R \geq 6$) [10].

Segundo ROZET et al. [8] a melhor maneira de calcular o limite de quantificação é o uso da abordagem do perfil de exatidão que atende aos requisitos dos critérios para o limite de quantificação demonstrando que o erro total do resultado é conhecido e aceitável nesses níveis de concentração, ou seja, um nível aceitável de erros sistemáticos e aleatórios. Os artigos de Hubert *et al.* [24] e Boulanger *et al.* [25] foram os primeiros a introduzir este conceito.

3.5 Precisão

A Definição Padrão de precisão é consistente com seu conceito nas normas brasileiras oficiais, como também nos documentos ISO 5725 [17], ICH [6], VIM [20], IUPAC [19] e EURACHEM/CITAC [21].

Conforme declarado nesses documentos, a precisão é expressa como desvio padrão, variância ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação), por meio da repetibilidade, da precisão intermediária e reprodutibilidade. Mede o erro aleatório ligado ao procedimento analítico, ou seja, a dispersão dos resultados em torno de seu valor médio.

Segundo a ISO 3534-2 [18] para se avaliar a repetibilidade “n” replicatas são testadas nas mesmas condições, na mesma amostra inicial, no mesmo laboratório, pelo mesmo operador, usando o mesmo equipamento, em um curto período. Já para a precisão intermediária, os resultados de ensaio são obtidos usando uma amostra homogênea em diferentes dias e/ou por diferentes operadores e/ou com diferentes equipamentos no mesmo laboratório. O objetivo final do estudo é obter um procedimento que represente o mais precisamente possível sua variabilidade sob circunstâncias normais de uso.

3.6 Exatidão (*Accuracy*) e Veracidade (*Trueness*)

A definição de exatidão pelas normativas brasileiras é apresentada na tabela 3.

Tabela 3. Definição de exatidão (*Accuracy*) de acordo com as normas brasileiras.

Instituição	Definição
ANVISA	A exatidão de um método analítico deve ser obtida por meio do grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro [4].
INMETRO	Os processos normalmente utilizados para avaliar a tendência de um método são, entre outros: uso de materiais de referência certificados (MRC), participação em comparações interlaboratoriais, comparação com método de referência (ou método validado) e realização de ensaios de recuperação. A tendência, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos. Nota - A exatidão é avaliada numericamente por meio da tendência [11].
MAPA	O vocabulário internacional de metrologia define a veracidade como: “grau de concordância entre a média de um número infinito de valores medidos repetidos e um valor de referência”. A veracidade é a concordância entre a média de um número suficientemente grande de resultados de um ensaio e o valor de referência aceito convencionalmente como verdadeiro. A veracidade está inversamente relacionada ao erro sistemático ou a correção ou ao fator de correção [10].

Na definição de “exatidão” pela ANVISA, que foi baseada no ICH [6], os dados recomendados para “exatidão” são “expressos pela relação percentual de recuperação do analito de concentração conhecida adicionado à amostra ou pela relação entre a concentração média, determinada experimentalmente, e a concentração teórica correspondente”. Isto não se refere mais à “exatidão”, mas sim à veracidade como definida no documento da ISO 5725 porque ela é o valor médio de vários resultados – como oposto a um único resultado para a exatidão – que é comparada ao valor verdadeiro, como afirmado anteriormente. Esta seção refere-se aos erros sistemáticos enquanto exatidão como definido no ICH Q2 (R1) parte 1 e ISO 5725-1 corresponde à avaliação do erro de medida [9].

O MAPA não faz referência alguma em seu documento sobre exatidão e sim ao termo correto veracidade/recuperação. Definindo ainda recuperação como uma expressão de sua veracidade pela medição da tendência total do procedimento analítico. Já o INMETRO usa o termo tendência/recuperação sem mencionar exatidão, já que a veracidade é expressa como a tendência.

A partir da definição da ISO 3534-2 [18] de exatidão, e conforme especificado pelo *Analytical Methods Committee* [26], é facilmente entendido que a exatidão se aplica rigorosamente aos resultados e não aos métodos analíticos, laboratórios ou operadores. Portanto, exatidão denota a ausência de erro de um resultado.

Segundo o VIM, a “exatidão de medição” não é uma grandeza e, portanto, não é atribuído um valor numérico. Uma medição é reconhecida mais exata quando é caracterizada por um erro de medição menor; a “exatidão de medição” é algumas vezes entendida como o grau de concordância entre valores medidos que são atribuídos ao mensurando. No entanto, o termo “exatidão de medição” não deve ser utilizado no lugar de veracidade de medição [20].

Conforme a definição de veracidade dada pela norma ISO 5725 [17], ela é uma característica ou qualidade de um procedimento analítico e não um resultado gerado por este procedimento [8].

A ISO 5725 [17] provê uma definição adequada para a determinação da exatidão de métodos quantitativos, definida como a soma da veracidade e da precisão sendo a veracidade expressa como a tendência.

Segundo a AOAC [16] o termo “exatidão” recebeu tantos significados que é melhor usar um termo mais específico. Normalmente, significa proximidade do resultado do teste com o valor “verdadeiro” ou aceito. Mas o resultado do teste pode ser um valor individual, a média de um conjunto de valores ou a média de muitos conjuntos de valores. Portanto,

sempre que o termo for usado, o número de valores que ele representa e sua relação devem sempre ser declarados, por exemplo, como resultado individual, como a média de duplicatas ou n réplicas, ou como a média de um conjunto de várias tentativas. A diferença do valor relatado do valor aceito, seja um valor individual, uma média de um conjunto de valores, ou a média de um número de médias, ou um valor atribuído, é a tendência nas condições relatadas. O termo frequentemente usado para tendência ou “exatidão” quando a média de um conjunto de valores é relatado é “veracidade”.

O erro total de medição dos resultados obtidos a partir de um procedimento analítico está relacionado ao grau de concordância entre os valores encontrados, ou seja, os resultados, e o valor que é aceito como um valor verdadeiro convencional ou um valor de referência aceito. Consequentemente, o erro de medição é a expressão da soma da veracidade (ou tendência) e precisão (ou desvio padrão), ou seja, o erro total [9].

O conceito de veracidade, conforme declarado na ISO 5725, foi criado para abordar algumas objeções filosóficas entre médicos e advogados em relação ao conceito de tendência em estatística [27].

Araújo [5] descreveu que em 2009 o termo exatidão parecia ser o preferido nas revistas científicas. Uma pesquisa realizada pelo autor no site do *Science Direct* usando as palavras-chave “*validation trueness*” e “*validation accuracy*” mostrou que apenas 55 artigos usaram as primeiras palavras-chave, enquanto 3876 usaram as últimas. Repetimos a mesma busca descrita, em 2022, e os resultados foram cerca de 221 artigos com os termos “*validation trueness*” e cerca de 7557 artigos continham o termo “*validation accuracy*”, indicando um aumento de 302 e 95%, respectivamente, dos dois termos em artigos.

3.7 Faixa de trabalho / Intervalo

Para qualquer método quantitativo, é necessário determinar a faixa de concentrações de analito ou valores de propriedade sobre os quais o método pode ser aplicado. Os documentos ANVISA e INMETRO se basearam no guia do ICH [6] e suas definições se encontram na tabela 4. Vale ressaltar que ocorre um equívoco no uso do termo exatidão, o qual deveria ser substituído por veracidade, ou aparecer sozinho expressando a soma da precisão e da veracidade.

O VIM [20] cita que o limite inferior de um intervalo de medição não deve ser confundido com limite de detecção.

A IUPAC [19] não recomenda a utilização do termo intervalo, e sim intervalo de medição, o qual define como o intervalo de concentrações entre o limite de medição e a indicação máxima utilizável.

Tabela 4. Definição de faixa de trabalho de acordo com as normas brasileiras.

Instituição	Definição
ANVISA	A faixa de trabalho deve ser estabelecida a partir dos estudos de linearidade, juntamente com os resultados de precisão e “exatidão”, sendo dependente da aplicação pretendida [4].
INMETRO	Faixa de trabalho de um procedimento analítico é o intervalo entre a menor concentração e a maior concentração de analito na amostra para o qual se demonstrou que o procedimento analítico tem um nível aceitável de precisão, “exatidão” e linearidade [11].
MAPA	Menciona, comenta em diferentes tópicos como linearidade, precisão e veracidade, porém não define como um critério de validação [10].

Segundo o EURACHEM [22], para análises quantitativas a faixa de trabalho do método é avaliada com diferentes concentrações do analito e determinando a faixa de concentrações para a qual a incerteza aceitável pode ser alcançada. Um pré-requisito para realizar a quantificação é estabelecer uma função de calibração para o instrumento de medição. Por esse motivo, pode ser relevante considerar separadamente a faixa de trabalho do método e a faixa de trabalho do instrumento.

A faixa deve ser determinada na fase inicial do desenvolvimento do método e sua seleção é baseada em informações prévias sobre a amostra, em um estudo específico. A faixa escolhida determina o número de padrões usados na construção de uma curva de calibração [8].

O ICH Q2 (R1) [6] assim como a ANVISA [4] recomendam os intervalos mínimos a serem especificados para diversos estudos:

- para o ensaio de um fármaco ou de um produto acabado (fármaco): normalmente de 80 a 120% da concentração de teste;
- para uniformidade de conteúdo, cobrindo um mínimo de 70-130% da concentração de teste, a menos que uma faixa mais ampla e apropriada, com base na natureza da forma farmacêutica (por exemplo, inaladores dosimetrados), seja justificada;
- para teste de dissolução: $\pm 20\%$ acima da faixa especificada;
- para a determinação de uma impureza: desde o nível reportado de uma impureza até 120% da especificação.

Portanto, a faixa de trabalho são as concentrações ou quantidades sobre as quais o erro total de medição - ou “exatidão” (ISO) - é aceitável. É essencial demonstrar a “exatidão” dos resultados em toda a faixa. Assim, a proposta do documento ICH [6] para realizar seis medições apenas no nível de 100% da concentração de teste para avaliar a precisão do método analítico deve ser usada com precauções para estar de acordo com a definição da faixa. A “exatidão” (ISO) e, portanto, veracidade e precisão devem ser avaliadas experimentalmente e devem ser aceitáveis em toda a faixa para a aplicação do procedimento analítico [8].

3.8 Pontuação do grau de concordância com as Definições Padrão

Considerando a concordância plena, parcial e nenhuma concordância em relação às Definições Padrão das características de validação dos três guias oficiais brasileiros, observamos que ANVISA, INMETRO e MAPA tiveram a pontuação de 9 (56,25%), 11 (68,75%) e 11 (68,75%), respectivamente, conforme a tabela 5.

Tabela 5. Escore do grau de concordância das normas brasileiras com as definições padrão das características de validação.

Características	ANVISA	INMETRO	MAPA
Seletividade	2	2	2
Função resposta / Curva de calibração	0	0	2
Linearidade	1	1	1
Limite de detecção	2	2	0
Limite de quantificação	1	1	2
Precisão	2	2	2
Exatidão/Veracidade	0	2	2
Faixa de trabalho / Intervalo	1	1	-
Somatório	9	11	11

0 = não concorda; 1 = concorda parcial; 2 = concorda integralmente

Classificando a concordância de forma mais rigorosa, apenas com as possibilidades de concordar ou discordar, os resultados seriam de 37,5, 50 e 62,5%, de concordância para ANVISA, INMETRO e MAPA, respectivamente.

O INMETRO e MAPA obtiveram pontuação (11 e 11) maior que a ANVISA (9), contudo o MAPA ficou com o maior índice de concordância (62,5%), apresentando

maior coerência em relação às Definições Padrão. Já a ANVISA e INMETRO, que possuem a maior parte dos seus guias baseados no ICH obtiveram menores índices de concordância (37,5 e 50%), respectivamente.

As características curva de calibração, linearidade, limite de quantificação, exatidão/veracidade e faixa de trabalho/intervalo foram as que apresentaram definições mais contraditórias, principalmente no que diz respeito à utilização correta do termo exatidão (ISO).

A concordância entre as definições contidas nos três guias entre si foi plena apenas para as características seletividade e precisão e teve as menores concordâncias para as definições de curva de calibração e exatidão.

Laboratórios devem estar atentos aos principais aspectos da validação de métodos aqui discutidos e ter em mente que sua má aplicação vai muito além de uma simples rejeição de um relatório enviado ou um desperdício de dinheiro, tempo e recursos. A aceitação e aplicação de terminologia errônea pode ter sérias implicações na confiabilidade dos resultados, no desempenho do laboratório e na credibilidade da instituição [5].

CONCLUSÕES

A acreditação de laboratórios pelo Cgcre do INMETRO na norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 interconecta as áreas da saúde humana, saúde animal e meio ambiente, entre outras.

Atualmente o conceito Uma Saúde (*One Health*) reconhece que a saúde dos seres humanos, animais, plantas e o ambiente estão interconectados e interdependentes. Esta ideia foi moldada ao longo dos séculos e ganhou impulso nos últimos 15 anos.

É importante ter definições inequívocas e cientificamente fundamentadas para as diferentes características de validação e empregar a metodologia estatística apropriada na avaliação destas definições.

O reposicionamento das definições e metodologias durante os processos de revisão de documentos regulatórios para eliminar requisitos e definições contraditórias, às vezes cientificamente irrelevantes, deve ser recomendado e implementado.

Foram demonstradas diferenças entre algumas características de validação descritas nas três normas oficiais avaliadas, sendo desejável uma harmonização entre elas para evitar discrepâncias entre os setores regulados pelos diferentes órgãos no país.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. K.T. Patel, N.P. Chotai, Pharmaceutical GMP: Past, present, and future – A review, *Die Pharmazie*, **63**, 251–255 (2007).
2. S.K. Jain, R.K. Jain, Evolution of GMP in pharmaceutical industry, *Res. J. Pharm. Tech.*, **10**(2), 501–506 (2017).
3. B.L. Clarke, Symposium on Statistical Methods in Experimental and Industrial Chemistry. Introductory remarks, *Anal. Chem.*, **19**(12), 943 (1947).
4. Brasil, Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 166, de 24 de julho de 2017, Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências, Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2017, nº 141.
5. P. Araujo, Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation, *J. Chromatogr. B: Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **877**(23), 2224–2234 (2009).
6. International Conference on Harmonization (ICH), Harmonised Tripartite Guidelines, *Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1)*, Genebra, Suíça, 2005.
7. P.H. Hubert, J.J. Nguyen-Huu, B. Boulanger, E. Chapuzet, P. Chiap, N. Cohen, P-A. Compagnon, W. Dewé, M. Feinberg, M. Lallier, M. Laurentie, N. Mercier, G. Muzard, C. Nivet, L. Valat, Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. A SFSTP proposal -- Part I, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **36**(3), 579–586 (2004).
8. E. Rozet, A. Ceccato, C. Hubert, E. Ziemons, R. Oprean, S. Rudaz, B. Boulanger, P. Hubert, Analysis of recent pharmaceutical regulatory documents on analytical method validation, *J. Chromatogr. A*, **1158**(1-2), 111–125 (2007).
9. J.L.S. Possas, J.E. dos Santos, M.C. Nascimento, P.A. dos Santos, D.W.C. Anjos, W.C. Moura, Uso do conceito do erro total, dos perfis de exatidão e do índice de exatidão no pré-estudo de validação de um ensaio imunoenzimático, *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **71**(4), 691–705 (2012).

10. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), *Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários*, MAPA, Secretaria de Defesa Agropecuária – Brasília: Mapa/ACS, 2011. 72 p.
11. Brasil, Ministério da Economia, Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), *Orientação sobre validação de métodos analíticos*, DOQ-CGCRE-008, 2020. rev. 8.
12. ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, *NBR ISO/IEC 17025:2017: Requisitos gerais para competência técnica de laboratórios de ensaio e calibração*, Rio de Janeiro, 2017.
13. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde – Reblas, 2022. URL: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/laboratorios/reblas>, consultado em dezembro de 2022.
14. Brasil, Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 390, de 26 de maio de 2020: Estabelece critérios, requisitos e procedimentos para o funcionamento, a habilitação na Reblas e o credenciamento de laboratórios analíticos que realizam análises em produtos sujeitos ao regime de vigilância sanitária e dá outras providências, Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2020, nº 101.
15. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), *Credenciamento de Laboratório na Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do MAPA*, 2022. URL: <https://www.gov.br/pt-br/servicos/credenciar-laboratorio-na-rede-nacional-de-laboratorios-agropecuarios-do-mapa>, consultado em dezembro de 2022.
16. AOAC International, *Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals*, Int 95, 2002.
17. ISO 5725, *Application of the Statistics-Accuracy (Trueness and Precision) of the Results and Methods of Measurement - Parts 1 to 6*, International Organization for Standardization (ISO), 2003.
18. ISO 3534-2: *Statistics - Vocabulary and Symbols*, International Organization for Standardization (ISO), 2006.
19. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), *Compendium of Chemical Terminology*, Gold Book, Version 2.3.2., 2012. 1622 p.

20. Brasil, Ministério da Economia, Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), *Vocabulário Internacional de Metrologia, Conceitos Fundamentais e Gerais e Termos Associado*, Luso-Brasileira do VIM, 2012.
21. EURACHEM/CITAC, *Guide: Guide to Quality in Analytical Chemistry: An Aid to Accreditation*, V. Barwick (editor), 3rd ed., 2016.
22. EURACHEM GUIDE, *The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, 2nd ed., 2014.
23. B. Persson, J. Vessman, Generating selectivity in analytical chemistry to reach the ultimate -specificity, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **17**(3), 117–119 (1998).
24. P. Hubert, P. Chiap, J. Crommen, B. Boulanger, E. Chapuzet, N. Mercier, S. Bervoas-Martin, P. Chevalier, D. Grandjean, P. Lagorce, M. Lallier, M.C. Laparra, M. Laurentie, J.C. Nivet, The SFSTP Guide on the validation of chromatographic methods for drug bioanalysis: From the Washington Conference to the Laboratory, *Anal. Chim. Acta*, **391**, 135–148 (1999).
25. B. Boulanger, P. Chiap, W. Dewé, J. Crommen, P.H. Hubert, An analysis of the SFSTP guide on validation of chromatographic bioanalytical methods: progress and limitations, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **32**(4-5), 753–765 (2003).
26. AMC - Analytical Methods Committee, Technical Brief 13, Royal Society of Chemistry, London, 2003. URL: <http://www.rsc.org/Membership/Networking/InterestGroups/Analytical/AMC/TechnicalBriefs.asp>, consultado em setembro de 2022.
27. W.W. Hauck, W.F. Koch, D.R. Abernethy, R.L. Williams, Making sense of trueness, precision, accuracy, and uncertainty, *Pharmaceutical Forum*, **34**(3), 838–842 (2008).

COMO CITAR ESTE ARTIGO

D.H. Vieira, W.C. Moreira, L. Ribeiro-Seródio, O.A. França-Presgrave, B. Dallagiovanna, W. Corrêa de Moura, Análise crítica de três guias Oficiais de Validação de Métodos Analíticos em vigor no Brasil, *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **52**(2), 658-680 (2023). <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v52n2.106421>